

Buňky LN229 | 305043

Obecné informace

Description

LN229 je lidská glioblastomová buněčná linie odvozená od 60leté bělošské pacientky s multiformním glioblastomem (GBM), konkrétně z pravé frontální parieto-okcipitální kůry. Glioblastom je jednou z nejagresivnějších a nejsmrtelnějších forem rakoviny mozku a buňky LN229 jsou hojně využívány ve výzkumu, jehož cílem je pochopit molekulární podstatu tohoto onemocnění a vyvinout potenciální terapeutické strategie. Buňky vykazují morfologii podobnou epitelu a mají adherentní růstové vlastnosti, což je činí ideálními pro studie in vitro. Vzhledem k jejich vysokému tumorigennímu potenciálu se po injekčním podání nahým myším snadno vytvářejí nádory, což z nich činí robustní model pro výzkum rakoviny.

Jednou z kritických charakteristik buněk LN229 je přítomnost mutovaného genu p53 (TP53) se specifickou mutací CCT (Pro) na CTT (Leu) v kodonu 98. Tento gen je pro buňky LN229 typický. Tato mutace významně přispívá k agresivnímu chování buněčné linie a její odolnosti vůči apoptóze. Buňky LN229 mají navíc gen PTEN divokého typu, ale vykazují homozygotní delece v nádorových supresorových genech p16 a p14ARF, které jsou životně důležitými regulátory buněčného cyklu a apoptózy. Tyto genetické změny činí z LN229 cenný model pro studium vlivu těchto mutací na biologii nádorů a rezistenci k léčbě.

Buňky LN229 jsou zvláště užitečné při studiu apoptózy. Po stimulaci ligandem Fas podléhají apoptóze, přičemž k buněčné smrti dochází do 16 hodin. Je zajímavé, že zatímco exprese Bcl-2 dokáže ochránit buňky LN229 před apoptózou vyvolanou ligandem Fas, poskytuje pouze omezenou ochranu před apoptózou vyvolanou puromycinem, inhibitorem syntézy proteinů. Tento selektivní vzorec rezistence činí z buněk LN229 kritický model pro pochopení molekulárních mechanismů apoptózy u glioblastomu a pro testování potenciálních terapií modulujících apoptózu. Stejně jako všechny výzkumné modely in vitro nejsou buňky LN229 vhodné pro terapeutické nebo in vivo aplikace.

Organism Člověk

Tissue Mozek, pravá frontální parieto-okcipitální kůra

Disease Glioblastom

Synonyms LN 229, LN229, LNT-229

Charakteristika

Age 60 let

Gender Ženy

Ethnicity Evropská

Morphology Epitelové

Buňky LN229 | 305043

Growth properties	Adherentní
--------------------------	------------

Regulační údaje

Citation	LN229 (katalogové číslo Cytion 305043)
-----------------	--

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_0393
-----------------------------	-----------

Biomolekulární data

Zpracování

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)
-----------------------	--

Supplements	Doplňte médium o 10% FBS
--------------------	--------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Doubling time	31 hodin
----------------------	----------

Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
---------------------	--

Split ratio	1:2 až 1:5
--------------------	------------

Fluid renewal	2 až 3krát týdně
----------------------	------------------

Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.
----------------------	--

Buňky LN229 | 305043**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky LN229 | 305043

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.